

Compte rendu de mission à Cuba

C. Abadie & P.-Y. Teycheney

24 mai - 6 juin 2008

1. Présentation générale de la mission

1.1. Historique de la collaboration scientifique entre le CIRAD et l'INISAV en phytopathologie des bananiers et plantains

La création de nouvelles variétés de bananiers repose pour l'instant sur des clones naturels sans aucune diversité génétique et vulnérables aux attaques parasites contre lesquelles n'existe qu'une lutte chimique. La création de nouvelles variétés apportant notamment des résistances naturelles aux maladies et aux ravageurs est donc une priorité pour l'élaboration de systèmes de culture durables et respectueux de l'environnement. Les variétés de bananiers cultivées aujourd'hui dérivent de deux espèces sauvages originelles, *Musa acuminata* (A) et *Musa balbisiana* (B) : *Musa acuminata* apporte des caractères de diversité et de qualité –notamment organoleptique- des fruits ainsi que des caractères de résistance, notamment aux nématodes et aux maladies dont la maladie des raies noires (MRN) ; *Musa balbisiana* apporte pour sa part des caractères de vigueur des plantes et de résistance aux stress –notamment hydrique- ainsi que des résistances complémentaires aux maladies. Les combinaisons de croisements entre ces deux espèces ont conduit à la création d'un certain nombre d'hybrides interspécifiques, en particulier au CIRAD. L'observation de ces combinaisons interspécifiques a malheureusement conduit à la découverte de séquences pararétrovirales endogènes du *Banana streak virus* (EPRV BSV) pathogènes intégrées au génome *Musa balbisiana*. L'expression de ces séquences est activée par certains stress biotiques et abiotiques dont la culture *in vitro*, et génère des particules virales, notamment dans les hybrides interspécifiques de génotype AAB et AAAB. En raison du risque de diffusion du BSV par l'activation d'EPRV BSV pathogènes, le CIRAD a choisi en 2000 d'éliminer une série d'hybrides AAB pourtant prometteuse qu'il avait créée et de cesser d'utiliser *M. balbisiana* dans son programme de création variétale, qui est donc désormais focalisé sur l'obtention d'hybrides intra spécifiques *Musa acuminata*. Parce qu'elle limite la base génétique des croisements, cette stratégie par défaut prive les hybrides obtenus des caractères de vigueur et de qualités mécaniques des fruits apportés par les parents *M. balbisiana*. Elle compromet également la création de variétés de bananiers plus rustiques et mieux adaptées aux stress abiotiques, notamment la sécheresse, et par conséquent la possibilité de cultiver des bananiers et plantains dans des zones aux ressources hydriques limitées comme Cuba.

Cependant, des variétés hybrides interspécifiques autres que celles développées au CIRAD mais de même constitution génétique ont été déployées dans certains pays des Caraïbes, d'Amérique Latine et d'Afrique. Cuba est actuellement le pays au monde dans lequel sont présentes les surfaces les plus importantes cultivées en hybrides interspécifiques, sélectionnés principalement pour leur résistance à la maladie des raies noires. L'impact de l'utilisation à grande échelle de ces hybrides sur (i) les populations du champignon *M. fijiensis* (agent de la maladie des raies noires) et la durabilité de la résistance des variétés au champignon ainsi que sur (ii) les risques de diffusion du BSV par activation des séquences EPRV BSV pathogènes intégrées au génome de *Musa balbisiana* n'a pas encore été évalué. Ces informations sont pourtant essentielles à la gestion durable de variétés hybrides interspécifiques de type AAB ou AAAB, tant en terme de résistance à *M. fijiensis* que de risque de diffusion du BSV. Elles revêtent un intérêt stratégique pour les programmes de création variétale et de diffusion de bananiers et/ou de plantains, en particulier pour celui qui est développé par le CIRAD aux Antilles françaises. De plus, l'augmentation du niveau de la MRN observée depuis 5 ans à Cuba, qui peut s'expliquer par un contournement de la résistance de certaines hybrides par le champignon, souligne l'urgence et la nécessité d'acquérir des données sur l'évolution des populations de *M. fijiensis* en contexte de déploiement à grande échelles de variétés hybrides résistantes.

Le CIRAD et l'INISAV (*Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal*, La Havane) ont établi en 2002 une collaboration scientifique visant à étudier l'impact sur la dynamique et l'évolution des populations de *M. fijiensis* et des espèces virales BSV du déploiement à grande échelle de variétés hybrides de bananiers et plantains. Cette collaboration a abouti à la présentation d'un projet commun, qui a été accepté en janvier 2003 pour financement par le Fond de Solidarité Prioritaire (FSP) bilatéral France /

Cuba. La rupture des relations diplomatiques entre Cuba et l'Union Européenne quelques mois plus tard a conduit à l'abandon du projet, qui n'a jamais pu démarrer. Conscients de l'intérêt stratégique pour nos deux pays de poursuivre des relations scientifiques, nos deux instituts ont tenu à maintenir leur collaboration. Ce maintien a été rendu possible, en dépit des contraintes importantes tant politiques que matérielles, grâce à l'appui constant des responsables successifs du SCAC de l'Ambassade de France à Cuba et de la Région Guadeloupe, et grâce à l'obstination des chercheurs français et cubains impliqués ainsi que des responsables du service de coopération régionale du CIRAD Antilles-Guyane. Cette collaboration se traduit par (i) des actions de recherche communes en mycologie et en virologie des bananiers et plantains, (ii) le co-encadrement par un chercheur du CIRAD et un chercheur de l'INISAV d'une thèse de doctorat, (iii) l'accueil régulier de chercheurs cubains au CIRAD Guadeloupe et (iv) une mission annuelle d'un ou deux chercheurs CIRAD à Cuba. L'ensemble de ces actions n'est possible que par la mobilisation de financements de l'Ambassade de France à Cuba, de la Région Guadeloupe et de financements propres du CIRAD.

1.2. Objectifs de la mission

Notre mission s'inscrit dans le cadre de la collaboration scientifique établie avec l'INISAV sur *Mycosphaerella fijiensis* et les virus de la mosaïque en tirets du bananier. Elle a été financée par l'Ambassade de France à Cuba et organisée avec l'appui du service de coopération régionale du CIRAD Guadeloupe, en collaboration avec le Service de Coopération et d'Action Culturelle de l'Ambassade de France à Cuba.

Cette mission avait pour objectifs :

- de consolider les relations de coopération existant entre le CIRAD et l'INISAV en matière de phytopathologie sur bananiers et plantains,
- de procéder à une étude de faisabilité d'un projet scientifique commun en phytopathologie des bananiers et plantains,
- de rencontrer les interlocuteurs institutionnels susceptibles de favoriser le développement de projets communs,
- d'effectuer des prospections en bananeraie afin de récolter des échantillons biologiques,
- de réaliser des analyses mycologiques et virologiques sur les échantillons récoltés,
- de réaliser la première réunion du comité de thèse d'E. Javier Higginson, doctorante co-encadrée par A.L. Echemendia (INISAV) et P.-Y. Teycheney (CIRAD)

2. Coopération institutionnelle avec l'INISAV en phytopathologie des bananiers et plantains

La consolidation et le renforcement des relations de coopération existant entre le CIRAD et l'INISAV en matière de phytopathologie sur bananiers et plantains nécessitent un cadre formel. En conséquence, les deux parties ont convenu de la nécessité de présenter un projet de recherche et de développement commun. Au cours de notre mission, une note concept reprenant les objectifs scientifiques, les partenariats envisageables, le calendrier d'exécution et les moyens nécessaires a été rédigée (voir annexe 5.2).

Ce projet est stratégique pour les Antilles Françaises, et particulièrement pour la région Guadeloupe, ainsi que pour l'ensemble de nos partenaires de la région Caraïbes. Il a été présenté à Mme S. Tarot (chargée de mission au SCAC de l'Ambassade de France à Cuba) et Mme I. Perojo Bellido de Luna, responsable de la coopération avec l'Europe au MINVEC (*Ministerio para la inversion extranjera y la colaboracion economica*) et a reçu un accueil très favorable. Le soutien du SCAC et du MINVEC est essentiel. La rédaction du projet devrait intervenir courant 2009, pour une soumission lors du 2^e appel

à projets du programme Interreg Caraïbes IV, sans doute fin 2009. La finalisation de ce projet se fera lors d'une nouvelle mission de C. Abadie et P.-Y. Teycheney à Cuba, au début du 2^e semestre 2009.

3. Prospections, échantillonnage et analyses de laboratoire

Une campagne d'échantillonnage a été effectuée, à des fins d'analyses mycologiques et virologiques avec les partenaires Cuba. Des échantillons foliaires ont été récoltés dans des exploitations situées dans les provinces de Villa Clara et Ciego de Avila, choisies en fonction de la diversité des variétés présentes et des conditions de culture. L'accent a été mis sur des variétés hybrides, qu'elles soient créées (FHIA 03, 18, 20, 21 et 25 ; Burro Camsa) ou naturelles (Yangambi km5, Pelipita). Les exploitations visitées sont les suivantes :

- La Cuba (province de Ciego de Avila)
- El mambí (province de Ciego de Avila).
- INIVIT, *Instituto de Investigación de Viandas Tropicales* (province de Villa Clara)
- Quemado de Guines (province de Villa Clara)



Collecte par les partenaires français et cubains d'échantillons foliaires de bananier lors de la prospection de terrain

De retour à l'INISAV, les échantillons ont été analysés en laboratoire :

- pour la présence d'espèces BSV, par la technique d'indexation par multiplex immuno capture polymérase chain reaction mise au point au CIRAD et transférée à l'INISAV. Ces échantillons serviront également à la recherche de nouvelles espèces virales BSV, qui fera l'objet d'un séjour d'E. Javer Higginson au CIRAD Guadeloupe dans le cadre de sa thèse de Doctorat, grâce à un financement de la région Guadeloupe (programme FCR)
- pour l'isolement, à des fins de constitution de populations, de souches cubaines de *M. fijiensis* issues de parcelles de 2 variétés : un hybride résistant anormalement affecté par la maladie (FHIA18) et une variété sensible. Les prélèvements ont été réalisés dans 2 localités différentes (La Cuba, Quemado de Guines), en vue de la caractérisation moléculaire et biologique des souches de *M. fijiensis*. La caractérisation de la structure génétique des populations isolées sera initiée lors du séjour prévu en décembre 2008 de M. Perez, mycologue à l'INISAV, au CIRAD Montpellier, où ont été développés des marqueurs moléculaires permettant le typage des souches de *M. fijiensis*.

4. Réunion du comité de thèse d'E. Javier-Higginson

La première réunion du comité de thèse d'Elisa Javier Higginson s'est tenue le 5 juin 2008 à l'INISAV (voir sujet de thèse : annexe 5.3 ; compte rendu du comité de thèse : annexe 5.4).

Le comité a jugé très positivement les travaux réalisés par E. Javier Higginson au cours des 6 premiers mois de sa thèse. Il a émis les recommandations suivantes :

- Elargir les zones de prospection aux zones d'altitude (montagnes de la Sierra Maestra, de l'Escambray) afin d'y étudier la transmission naturelle du virus par ses vecteurs (cochenilles) et d'y rechercher de nouvelles espèces virales BSV.
- Elargir la gamme variétale des espèces échantillonnées, notamment à *Musa textilis* mais également d'autres Musacées.
- Rééquilibrer les échantillonnages en accroissant les prélèvements d'échantillons de génotype *acuminata*
- Confirmer par analyse moléculaire le génotype des variétés échantillonnées
- Débuter l'étude de la vection des espèces BSV par les cochenilles
- Rédiger une publication sur la caractérisation des espèces BSV identifiées à Cuba, en vue d'une publication dans une revue de rang A
- Présenter les résultats obtenus lors du congrès de l'American Society of Phytopathology en septembre 2008 à La Havane.

5. Conclusions

Les objectifs de notre mission ont été remplis :

- les relations de coopération existant entre le CIRAD et l'INISAV en matière de phytopathologie sur bananiers et plantains ont été renforcées,
- la trame d'un projet scientifique commun en phytopathologie des bananiers et plantains a été rédigée,
- les interlocuteurs institutionnels susceptibles de favoriser le développement de projets communs ont été rencontrés,
- des prospections en bananeraie ont été effectuées afin de récolter des échantillons biologiques,
- les analyses mycologiques et virologiques des échantillons récoltés ont été débutées,
- la première réunion du comité de thèse d'E. Javier Higginson a été organisée.

Le séjour dans les laboratoires du CIRAD d'E. Javier Higginson et de M. Perez, prévu au 2^e semestre 2008, permettra la poursuite des travaux engagés. Le dépôt d'un projet de recherche commun, probablement dans le cadre d'un appel du programme Interreg IV, est prévu pour la fin de l'année 2009.

5. Annexes

5.1. Programme de la mission

Samedi 24 mai	<ul style="list-style-type: none"> • Voyage Pointe-à-Pitre / La Havane (Dr Catherine Abadie)
Mercredi 28 mai	<ul style="list-style-type: none"> • Voyage Paris-La Havane (Dr. Pierre Yves Teycheney)
Jeudi 29 mai	<ul style="list-style-type: none"> • Réception à l'INISAV et établissement du programme de travail • Départ pour Ciego de Ávila
Vendredi 30 mai	<ul style="list-style-type: none"> • Visite de l'exploitation "La Cuba". Prospections et collecte d'échantillons de bananiers et plantains. • Visite de l'exploitation " El mambí ". Prospections et collecte d'échantillons de bananiers et plantains.
Samedi 31 mai	<ul style="list-style-type: none"> • Visite de l'INIVIT. Prospections et collecte d'échantillons de bananiers et plantains. • Visite de l'exploitation " Quemado de Guines ". Prospections et collecte d'échantillons de bananiers et plantains.
Dimanche 1er juin	<ul style="list-style-type: none"> • Retour à La Havane
Lundi 2 juin (INISAV)	<ul style="list-style-type: none"> • Préparation des échantillons pour les analyses virologiques et mycologiques • Discussions préparatoires à la rédaction d'un projet commun CIRAD / INISAV
Mardi 3 juin (INISAV)	<ul style="list-style-type: none"> • Analyses virologiques et mycologiques en laboratoire • Discussions préparatoires à la rédaction d'un projet commun CIRAD / INISAV
Mercredi 4 juin (INISAV)	<ul style="list-style-type: none"> • Analyses virologiques et mycologiques en laboratoire • Discussions préparatoires à la rédaction d'un projet commun CIRAD / INISAV
Jeudi 5 juin (INISAV)	<ul style="list-style-type: none"> • Comité de thèse d'E. Javer Higginson • Rédaction d'une note concept pour un projet commun CIRAD / INISAV
Vendredi 6 juin	<ul style="list-style-type: none"> • Visite à l'Ambassade de France (S. Tarot) • Visite au MINVEC (I. Mme Perojo Bellido de Luna) • Voyage La Havane / Paris (Dr P.-Y. Teycheney)
Samedi 7 juin	<ul style="list-style-type: none"> • Voyage La Havane / Pointe-à-Pitre (Dr D. Abadie)

5.2. Note concept pour un projet en collaboration

Main objective

Effect of large scale cultivation of *Musa* hybrids on the evolution and population dynamics of *Mycosphaerella fijiensis* and *Banana streak viruses* and on crop management practices.

Keywords

Pathogen evolution; epidemiology (dynamics & transmission); crop management.

Specific objectives

- 1- Determine the diversity of BSV populations in synthetic hybrids in comparison to *M. acuminata* and *M. acuminata* and *Musa* spp landraces (**evolution**)
- 2- Changes of aggressiveness of *M. f.* on the possible loss of *Musa* hybrids resistance (**evolution**)
- 3- Dispersal of BLSD and BSV in Cuba (**dynamics / transmission**)
- 4- Impact of BSV on production (**crop management**)
- 5- Effect of nutrition of *Musa* hybrids on partial resistance against BLSD (**crop management**)
- 6- Optimization of virus indexing procedures (**crop management**)

Workpackages

WP1. Disease dispersal at different scales

Task 1. Modeling the dispersal of BLSD in Cuba through the analysis of historical data regarding the detection of BLSD at the local (county) scale.

Partners : CIRAD, INISAV, LCCV

Task 2. Analysis of the genetic structure of *M. fijiensis* populations at the country scale using molecular neutral markers (microsatellites and others)

Partners : CIRAD, INISAV

Task 3. BSV vector-borne transmission: develop methodologies for characterizing mealybug species transmitting BSV species; survey mealybug populations at the field scale.

Partners : CIRAD, INISAV, LCCV

WP2. Comparative studies of *M. fijiensis* and BSV populations on synthetic hybrids and natural landraces

Task 1. Comparison of the molecular and genetic structure of *M. fijiensis* populations isolated from partially resistant hybrids (FHIA 18) and susceptible landraces under 3 different environmental (rainfall, resistance pressure) conditions.

Partners : CIRAD, INISAV

Task 2. Comparison of the aggressiveness of *M. fijiensis* populations isolated from partially resistant hybrids (FHIA 18) and susceptible landraces by artificial inoculation on detached leaves and/or whole plants.

Partners : CIRAD, INISAV

Task 3. Comparison of BSV species arising from vector-borne transmission (*M. acuminata*) and from the activation of pathogenic BSV EPRVs (interspecific hybrids, plantain)

Partners : CIRAD, INISAV

WP3. Crop management

Task 1. Optimization of virus indexing techniques for the safe movement and production of *Musa* germplasm.

Partners : CIRAD, INISAV, INIVIT, IBP, LCCV

Task 2. Field evaluation of resistance efficacy against BLSD in synthetic hybrids (FHIA 18) under different environmental conditions with regard to rainfall and host resistance pressure.

Partners : INISAV

Task 3. Experimental study of the effects of plant nutrition (K, N) on resistance levels in synthetic hybrids (FHIA18).

Partners : CIRAD, INISAV, INIVIT, Soil Institute, INIFAT

Task 4. Effect of mixture of partial and susceptible cultivars on disease levels.

Partners : CIRAD, INISAV, INIVIT, INIFAT

Task 5. Impact of BSV infections on production in synthetic hybrids and natural landraces (yield, fruit quality).

Partners : CIRAD, INISAV, INIVIT

Task 6. Impact of the multiplication method (vitroplants vs suckers) on the prevalence levels of BSV in the most popular interspecific hybrids (FHIA18, FHIA 21, FHIA 23)

Partners : CIRAD, INISAV, IBP

Expected outcomes

- Increased food security through safer large scale cultivation of disease-resistant *Musa* interspecific hybrids
- Improved procedures in diagnosis methods for the safe movement of *Musa* germplasm and crop management
- Capacity building in crop management (technical and scientific skills)
- Strengthened national and international scientific collaboration

Partnership

- INISAV (contractor)
- INIVIT (contractor)
- CIRAD (contractor)
- IBP (contractor)
- INIFAT (subcontractor)
- Cuban central plant quarantine lab (LCCV) (subcontractor)
- Soil insitute (subcontractor)

Timetable

		Month					
		1-6	7-12	13-18	19-24	25-30	31-36
WP1	Task 1						
	Task 2						
	Task 3						
WP2	Task 1						
	Task 2						
	Task 3						
WP3	Task 1						
	Task 2						
	Task 3						
	Task 4						
	Task 5						
	Task 6						

Budget (in US\$)

Large equipment:

- 1 car for conducting field experiments: 45 000
- 1 imaging system for molecular biology: 20 000

Subtotal : 65 000

Small equipment:

- 1 laminar flow: 10 000
- 96 wells PCR machine: 7 000
- Lighted incubator: 10 000
- ELISA plate reader: 10 000
- 2 computers and printers: 4 000
- Stereoscope: 7 000
- Full electrophoresis equipment: 5 000
- 3 full sets of micropipettes: 5 000
- Equipment for incubation room : 1 000
- Books, technical manuals & softwares : 5 000

Subtotal : 64 000

Consumables:

- Fertilizers: 5 000
- Laboratory products & glasware: 70 000

Subtotal : 75 000

Travel & subsistence:

- Annual meetings: 28 000
- Scientific exchanges: 35 000

Subtotal : 63 000

Total : 267 000

5.3. Sujet de thèse d'Elisa Javier Higginson

Evaluation des niveaux de prévalence, de la diversité moléculaire et de la vection des espèces de virus de la mosaïque en tirets du bananier (BSV) présentes à Cuba et étude de la corrélation entre la présence d'espèces BSV et celle d'hybrides interspécifiques porteurs d'EPRV BSV pathogènes.

Résumé

Les bananiers et les plantains sont la cible d'une maladie cryptogamique causée par le champignon *Mycosphaerella fijiensis* dont le contrôle repose actuellement sur l'application de fongicides, qui est coûteuse et polluante. C'est pourquoi la création de nouvelles variétés de bananiers naturellement et durablement résistantes à *M. fijiensis* revêt un intérêt primordial pour les pays producteurs, dont Cuba. Des variétés hybrides interspécifiques de ce type obtenues en croisant des parents *Musa acuminata* et *M. balbisiana* ont été déployées à très large échelle à Cuba. Cependant, des séquences pararétrovirales endogènes du *Banana streak virus* (EPRV BSV) infectieuses sont intégrées au génome *Musa balbisiana* et s'expriment dans les variétés hybrides interspécifiques après activation par certains stress abiotiques comme la culture *in vitro* ou les différences de température. Il est donc important d'évaluer le risque de diffusion des espèces BSV par le déploiement à grande échelle de variétés hybrides interspécifiques. Dans cette optique, et à des fins de gestion du risque BSV, cette thèse a pour objectifs l'évaluation du niveau de prévalence et de la diversité des espèces BSV présentes à Cuba, l'étude d'éventuelles corrélations entre la présence d'espèces BSV et celle d'EPRV BSV et le rôle des espèces de cochenilles présentes à Cuba dans la vection des espèces BSV.

Mots clés: Pararétrovirus endogènes ; hybrides interspécifiques ; *Banana streak virus* ; diversité ; évaluation du risque.

Objectifs

Objectif général

Evaluation de l'état sanitaire de la bananeraie cubaine vis-à-vis des espèces BSV et étude de corrélation entre la présence d'espèces BSV et celle d'EPRV BSV.

Objectifs spécifiques

- Optimisation des techniques de diagnostic immuno-moléculaire des espèces BSV ; les introduire dans les schémas de certification des vitroplants et le mouvement de germplasm *Musa* à Cuba.
- Evaluation du niveau de prévalence des principales espèces BSV à Cuba et de leur éventuelle corrélation avec le génotype des plantes hôtes.
- Recherche de nouvelles espèces BSV et, le cas échéant, les séquences endogènes correspondantes.
- Caractérisation des espèces de cochenilles présentes à Cuba et de leur rôle dans la vection des espèces BSV.

Perspectives

- Evaluation du risque BSV lié au déploiement à grande échelle de variétés interspécifiques de bananier et de plantain.
- Le cas échéant, mise en place de stratégies de gestion de ce risque.

Situation du sujet

La création de nouvelles variétés de bananiers et de plantain apportant notamment des résistances naturelles et durables aux maladies et aux ravageurs est une priorité pour l'élaboration de systèmes de culture durables, économiques et respectueux de l'environnement. Les variétés de bananiers cultivées aujourd'hui dérivent de deux espèces sauvages originelles, *Musa acuminata* (A) et *Musa balbisiana* (B) (Carreel *et al.*, 2002) : *Musa acuminata* apporte des caractères de diversité et de qualité des fruits ainsi que des caractères de résistance, notamment aux maladies cryptogamiques et aux nématodes (Miller *et al.*, 2008 ; Peraza-Echevaria *et al.*, 2007); *Musa balbisiana* apporte pour sa part des caractères de vigueur des plantes et de résistance aux stress -notamment hydrique- ainsi que des résistances complémentaires. Les combinaisons de croisements entre ces deux espèces ont conduit à la création d'un certain nombre d'hybrides interspécifiques. L'observation de ces combinaisons interspécifiques a malheureusement conduit à la découverte de séquences pararétrovirales endogènes du *Banana streak virus* (EPRV BSV) pathogènes intégrées au génome *Musa balbisiana* (Iskra-Caruana *et al.*, 2003 ; Lheureux *et al.*, 2003 ; Hohn *et al.*, 2007 ; Gayral *et al.*, 2008). L'expression de ces séquences est activée par certains stress biotiques et abiotiques dont la culture *in vitro* (Dallot *et al.*, 2001 ; Folliot *et al.*, manuscrit en préparation), et génère des particules virales, notamment dans les hybrides interspécifiques de génotype AAB et AAAB.

Connues depuis longtemps dans le règne animal et chez les insectes, les séquences virales endogènes n'ont été découvertes que récemment chez les plantes (pour revue, voir Harper *et al.*, 2002). A ce jour, les séquences virales endogènes des plantes qui ont été caractérisées sont majoritairement d'origine pararétrovirale (EPRV), et seules certaines d'entre elles sont susceptibles de générer des particules virales *via* des processus d'activation : il s'agit de séquences du *Tobacco vein clearing virus* (TVCV ; Lockhart *et al.*, 2000) intégrées dans le génome de *Nicotiana edwardsonii*, du *Petunia vein clearing virus* (PVCV ; Richert Pöggeler *et al.*, 2003 ; Noreen *et al.*, 2007) intégrées dans le génome du pétunia et de plusieurs espèces BSV (Gayral *et al.*, 2008) intégrées au génome *M. balbisiana*. Plusieurs programmes de recherche visent à élucider les mécanismes génétiques et moléculaires de l'activation des EPRV pathogènes, dans l'espoir de mettre au point des stratégies de lutte contre l'activation. Ces programmes ont participé à l'essor global des connaissances sur les séquences virales endogènes.

Dans le cas des EPRV BSV, un facteur génétique associé à l'expression de la maladie dans des hybrides AAB a été identifié (Lheureux *et al.* 2003). La séquence complète de certains EPRV BSV présents dans le génome *M. balbisiana* a été déterminée (Gayral *et al.*, 2008). L'analyse de ces séquences a montré que plusieurs EPRV BSV potentiellement infectieux comportant la totalité du génome viral sous forme de séquences fortement réarrangées et parfois dupliquées sont présents dans le génome nucléaire de *M. balbisiana*. Enfin, une étude exhaustive du comportement en culture *in vitro* de quelques hybrides AAB et AAAB naturels ou créés a montré que les EPRV BSV pathogènes présents dans leur génome s'y comportent de façon identique : ils sont pareillement susceptibles d'activation par la culture *in vitro*, ce qui aboutit à une proportion importante (10 à 20%) de plantes infectées par une ou plusieurs espèces BSV (Folliot *et al.*, manuscrit en préparation). Tous ces résultats ne permettent toutefois pas d'envisager à une échéance raisonnable le développement et la mise en œuvre de stratégies de lutte contre l'expression des EPRV BSV pathogènes. Parallèlement, les travaux conduits sur d'autres pathosystèmes ont abouti à des avancées importantes sur les EPRV, notamment la mise en évidence de leur présence dans le génome de nombreuses plantes cultivées dont la tomate, la pomme de terre, le poivron, le tabac ou la betterave sucrière (Hohn *et al.*, 2007). L'utilisation des pathosystèmes petunia/ PVCV EPRV, tomate / LycEPRVs et tabac / *Tobacco endogenous pararetrovirus* (TEPV) a pour sa part permis la caractérisation de mécanismes de régulation transcriptionnelle de l'expression des EPRV (Noreen *et*

al., 2007) et l'accumulation de données expérimentales suggérant l'implication des EPRV non pathogènes dans des mécanismes de protection anti virale (Mette *et al.*, 2002).

Cependant, des recherches ayant pour objectif de trouver des solutions à court ou moyen terme aux problèmes posés par les EPRV BSV pathogènes doivent également être entreprises. Elles concernent notamment l'évaluation du risque de diffusion des espèces BSV par la diffusion à grande échelle d'hybrides interspécifiques porteurs d'EPRV BSV pathogènes, dont cette thèse est une composante.

Références

- Carreel F., Gonzalez de Leon D., Lagoda P. (2002). *Genome* **45** : 679-692
- Dallot S., Rivera C., Ramirez P., Côte F., Lockhart B., Caruana M.L. (2001). *Arch Virol* **146**: 2179 - 2190.
- Gayral P, Noa-Carranza JC, Lescot M. et al. (2008).. *J Virol.*(sous presse).
- Hohn T., Richert-Pöggeler K., Staginnus C., Harper G., Schwartzacher T., Teo C.-H., Teycheney P.-Y., Iskra-Caruana M.-L., Hull R. (2007). Evolution of integrated plant viruses. M. Roossinck ed., Springer.
- Iskra-Caruana M.-L., Lheureux F., Teycheney, P.-Y. (2003). *Virologie* **7**: 255-265.
- Lheureux F, Carreel F, Jenny C, Lockhart BE, Iskra-Caruana ML (2003). *Theor Appl Genet* **106**: 594-598.
- Lockhart BE, Menke J, Dahal G, Olszewski NE. (2000). *J Gen Virol.* **81**: 1579-85.
- Mette MF, Kanno T, Aufsatz W, Jakowitsch J, van der WJ, Matzke MA, Matzke AJ (2002). *EMBO J* **21**: 461-469
- Miller RN, Bertoli DJ, Baurens FC. et al. (2008). *BMC Plant Biol.* **30**: 8-15.
- Noreen, F., Abkerenov, R., Hohn, T. Richert-Pöggeler, K. (2007). *Plant J.* **50**: 219-229.
- Peraza-Echeverria S, James-Kay A, Canto-Canché B, Castillo-Castro E. (2007). *Mol Genet Genomics.* **278**: 443-53
- Richert-Pöggeler KR, Noreen F, Schwarzacher T, Harper G, Hohn T. (2003). *EMBO J.* **22**: 4836-45.

Calendrier

	Année 1		Année 2		Année 3		Janvier 2011
	Semestre 1	Semestre 2	Semestre 1	Semestre 2	Semestre 1	Semestre 2	
Campagne nationale d'échantillonnage							
Caractérisation des principales espèces virales BSV							
Recherche et caractérisation de nouvelles espèces BSV et d'EPRV correspondantes							
Etude statistique des corrélations entre génotype des plantes hôtes et prévalence des espèces BSV							
Caractérisation des espèces de cochenilles vectrices des espèces virales BSV et étude de leur dynamique							
Examen de langues anglaise							
Examens de philosophie et de virologie							
Rédaction de la thèse							
Rédaction des publications							
Soutenance							

Collaborations envisagées

- Centre de Coopération Internationale en Recherches Agronomiques pour le Développement, CIRAD, Guadeloupe
- Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB), La Habana, Cuba

5.4. Compte rendu du comité de thèse d'E. Javer-Higginson

Date de la première réunion du Comité de thèse : 05/06/2008

Nom, qualité et établissement de rattachement des membres du Comité de thèse :

1 : Dra Ana Lidia Etchemendia, responsable de l'équipe de virologie - Co-directrice de thèse
INISAV, La Havane, Cuba

2 : Dr Pierre-Yves Teycheney, chercheur virologue – Co-directeur de thèse
CIRAD-UPR75, Station de Neufchâteau, Capesterre Belle-Eau, Guadeloupe

3 : Dr Pedro Luis Ramos, chercheur virologue
Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB), La Havane, Cuba

4 : Dra Gloria Gonzales Arias, chercheur virologue, membre du Conseil Scientifique
INISAV, La Havane, Cuba

5 : Dr Luis Perez Vicente, directeur
Service national de la protection des végétaux, La Havane, Cuba.

Sujet de la thèse :

Evaluation des niveaux de prévalence, de la diversité moléculaire et de la vection des espèces de virus de la mosaïque en tirets du bananier (BSV) présentes à Cuba et étude de la corrélation entre la présence d'espèces BSV et celle d'hybrides interspécifiques porteurs d'EPRV BSV pathogènes.

Résumé du sujet :

Les bananiers et les plantains sont la cible d'une maladie cryptogamique causée par le champignon *Mycosphaerella fijiensis* dont le contrôle repose actuellement sur l'application de fongicides, qui est coûteuse et polluante. C'est pourquoi la création de nouvelles variétés de bananiers naturellement et durablement résistantes à *M. fijiensis* revêt un intérêt primordial pour les pays producteurs, dont Cuba. Des variétés hybrides interspécifiques de ce type obtenues en croisant des parents *Musa acuminata* et *M. balbisiana* ont été déployées à très large échelle à Cuba. Cependant, des séquences pararétrovirales endogènes du *Banana streak virus* (EPRV BSV) infectieuses sont intégrées au génome *Musa balbisiana* et s'expriment dans les variétés hybrides interspécifiques après activation par certains stress abiotiques comme la culture *in vitro* ou les différences de température. Il est donc important d'évaluer le risque de diffusion des espèces BSV par le déploiement à grande échelle de variétés hybrides interspécifiques. Dans cette optique, et à des fins de gestion du risque BSV, cette thèse a pour objectifs l'évaluation du niveau de prévalence et de la diversité des espèces BSV présentes à Cuba, l'étude d'éventuelles corrélations entre la présence d'espèces BSV et celle d'EPRV BSV et le rôle des espèces de cochenilles présentes à Cuba dans la vection des espèces BSV.



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES DE SANIDAD VEGETAL
Calle 110 # 514 Esq. 5ta B, Playa, C. Habana Teléfonos: 202-2510

Ciudad de la Habana, 11 de junio del 2008


Con fecha 5 de Junio del 2008, se realizó en el Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal de Cuba, un Comité de Tesis para evaluar el desempeño de los primeros 6 meses del periodo de la Tesis de Doctorado de la Lic. Elisa Javier Higginson, investigadora del INISAV. En la reunión estaban presentes la Dra. Ana Lidia Echemendia Gómez (Inisav, Cuba), tutora de la tesis, el Dr. Pierre Yves Teycheney (CIRAD, Guadalupe), cotutor de la tesis; el Dr. Pedro Luis Ramos González (CIGB, Cuba), el Dr. Luis Pérez Vicente (LCCV, Cuba) y la Dra. Gloria González Arias (Inisav, Cuba).

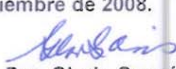
La Lic. Elisa Javier Higginson realizó una presentación de su Tema de Tesis que fue expuesto con un alto nivel científico y que constó de una parte introductoria donde expuso los antecedentes de la enfermedad del rayado del plátano, las características de su agente causal: *Banana streak virus*, así como la situación del cultivo del plátano y banano en Cuba y la importancia de contar con un diagnóstico confiable de la virosis aplicable en diferentes programas establecidos en el país y en el mejoramiento genético. Confeccionó una hipótesis de trabajo y los objetivos generales y específicos, posteriormente presentó el programa de trabajo, los resultados parciales y las perspectivas futuras de la Tesis.


Los asistentes hicieron recomendaciones en cuanto a la forma en que debe ser enfocado el tema y los resultados, así como algunos aspectos de la parte experimental de la tesis:

- 1- Colectar muestras en zonas como el Escambray o la Sierra Maestra, con el objetivo de encontrar nuevos aislados de BSV en áreas donde hay poca intervención del hombre.
- 2- Prospeccionar otras variedades, como *Musa textilis* y otras Musáceas
- 3- En cuanto a las próximas indexaciones dirigir la colecta hacia variedades de genotipo acuminate (genoma A) pues esta poco representado dentro del total de muestras.
- 4- Confirmar la variedad de las plantas que se colecten y su genoma (genoma A o genoma B)
- 6- Para la confirmación de las nuevas especies
 - Aislar partículas virales y realizar PCR con cebadores que amplifiquen el genoma completo y diseñar cebadores a partir de las secuencias obtenidas con los cebadores degenerados, que permitan amplificar el genoma viral completo.
- 7- Una vez que se conozca que es una nueva especie diseñar un par de cebadores específicos para la detección de esta especie por IC-PCR.
 - Publicar una nota en la revista Plant Pathology sobre la detección de especies BSV en Cuba y la posible presencia de nuevas especies y presentar los resultados en la 48 Reunión Anual de la Sociedad Americana de Fitopatología- División Caribe, a celebrarse en La Habana, Septiembre de 2008.


Dra. Ana Lidia Echemendia Gómez
Tutora de Tesis


Dr. Pedro Luis Ramos González
CIGB


Dra. Gloria González Arias
INISAV, Sec. de Acta


Dr. Pierre-Yves Teycheney
CIRAD, Guadalupe